

人工子宮下ヒツジ胎仔への低用量出生前ステロイド療法を検討

Low-Dose Antenatal Corticosteroid Therapy Directly Administered to Fetal Sheep Under Artificial Womb Support

東北大学大学院医学系研究科 周産期医学分野 高橋 司

要約

＜緒言＞出生前ステロイド（ACS）療法は、早産が予測される妊婦に対してグルココルチコイドを投与し胎児肺成熟を促進する標準治療である。しかし効果持続期間は限定的であり、早産時期の予測困難性から有効期間外での分娩や不必要な曝露が生じることが課題となっている。本研究では、人工子宮管理下において胎児へ直接低用量ベタメサゾンを持続投与した場合にも肺成熟が得られるかを妊娠ヒツジモデルで検証した。＜方法＞妊娠117-119日のヒツジ13頭を、①コントロール群（n=7）、②臨床ACS療法群（n=3）、③人工胎盤+ACS療法群（n=3）の3群に分けた。臨床ACS群では母体へベタメサゾン12 mgを24時間間隔で2回筋肉内投与した。人工胎盤+ACS群では帝王切開後に人工子宮へ接続し、胎児へベタメサゾンボーラス18 µg投与後、12 µg/hで50時間持続静注した。全群で30分間同条件下の人工呼吸管理を行い、臍動脈血液ガス分析および肺圧容量曲線を評価した。＜結果＞出生体重に群間差は認めなかった。人工呼吸30分後の血液ガスでは、臨床ACS群および人工胎盤+ACS群でコントロール群と比較してpH上昇、pCO₂低下、pO₂上昇を示した。さらに両ACS群で肺圧容量曲線の改善が認められ、肺コンプライアンスの向上が示唆された。人工胎盤+ACS群の改善度は臨床ACS群と同程度であった。＜結語＞人工子宮管理下において胎盤を介さず胎児へ低用量で持続的にベタメサゾンを投与した場合にも肺成熟が得られる可能性が示された。本手法はACS療法の至適タイミングを制御し得る新たな治療戦略となる可能性がある。今後は症例数を増やし、組織学的および分子生物学的解析を含めた検討が必要である。

緒言

出生前ステロイド（Antenatal Corticosteroid：以下ACS）療法は、早産が予測される妊婦に対してグルココルチコイドを投与することで胎児肺成熟を促進し、新生児予後を改善する確立された治療である。1972年にLigginsらがACS療法により新生児呼吸窮迫症候群（Respiratory Distress Syndrome: RDS）および新生児死亡を有意に減少させることを報告して以来、本療法は世界的標準治療として広く普及してきた¹。

現在では、デキサメサゾン6 mgを12時間ごとに4回、あるいはベタメサゾン12 mgを24時間ごとに2回、妊娠34週未満で1週間以内に早産の可能性が高い妊婦に筋肉内投与するプロトコルが国際的な標準とされている。本邦においても、ベタメサゾン12 mgを24時間間隔で2回筋肉内投与する方法が保険適用

となっている。しかしながら、これらの投与レジメンはLigginsらの報告以来、半世紀以上にわたり本質的な変更が加えられていない。

コクランレビューをはじめとする多数のメタアナリシスにより、ACS療法はRDS、脳室内出血、新生児死亡を有意に減少させることが示されている²。一方で、その適応拡大に伴い、潜在的な副作用も明らかになってきた。繰り返し投与は出生体重減少と関連することが報告されており、さらにACS投与後に早産に至らず正期産となった児では、非投与児と比較して神経発達に負の影響を及ぼす可能性も指摘されている。すなわち、ACS療法は明確な有益性を有する一方で、その投与タイミングや投与回数によっては不利益が生じ得る治療でもある。ACSの効果持続期間は投与開始後約24時間から7日間と限定的である。しかし、早産発症時期の正確な予測は依然と

して困難であり、実臨床においては効果期間内に分娩に至らない症例が少なくない。欧米の報告では、およそ40%前後が推奨される有効期間外に出生しているとされている。以上のことから、現在のACS療法が「適切な症例に、適切な時期に、適切な用量で」投与されているとは必ずしも言えない現状を示している。すなわち、治療効果を最大限に引き出しつつ副作用を最小限に抑える投与戦略の確立は、依然として重要な課題である。

我々はこれまでに妊娠ヒツジモデルを用いて、ACS療法の至適投与方法および人工子宮環境下での未熟児管理について検討してきた。その結果、胎児血中ベタメサゾン濃度を2 ng/mL以上に維持し、それを48時間持続させることで有意な肺成熟効果が得られることを報告した³。また、人工胎盤および人工羊水を用いた人工子宮システムにより、未熟胎仔を最大2週間にわたり体外環境下で生理的循環を維持したまま成育可能であることを示した⁴。本システムでは、分娩後に臍帯へカテーテルを挿入し人工肺に接続することで、胎児を肺呼吸へ移行させることなく母体外で循環維持が可能となっている。

これらの知見を踏まえると、早産児を人工子宮環境下で管理しながらACS療法を実施し、十分な肺成熟が得られた時点で人工子宮から離脱し肺呼吸を開始させるという戦略が理論的に可能である。この方法により、侵襲的人工呼吸管理を回避しつつ、薬理学的に最適化されたタイミングでACS効果を発揮させることが期待される。

本研究では、人工子宮管理下においてACS療法を実施した場合にも胎児肺成熟が得られるという仮説を立て、妊娠ヒツジモデルを用いて検証を行った。

方 法

本研究は東北大学動物実験倫理委員会の承認のもと実施した。妊娠117-119日（満期150日）の妊娠ヒツジを対象とし、妊娠ヒツジを以下の3群に割り付けた。

①コントロール群（n=7）

分娩2日前および1日前に、生理食塩水2 mLを母体大腿部に筋肉内投与した。妊娠119日目に帝王切開にて分娩し、児に気管切開を施行後、30分間人工呼吸器管理を行った。

②臨床ACS療法群（n=3）

分娩2日前および1日前に、ベタメサゾンリン酸塩

12 mgを24時間間隔で2回、母体に筋肉内投与した。妊娠119日目に帝王切開にて分娩し、児に気管切開を施行後、30分間人工呼吸器管理を行った。

③人工胎盤+ACS療法群（n=3）

妊娠117日目に帝王切開にて分娩後、直ちに人工子宮管理を開始した。分娩直後にベタメサゾンリン酸塩18 μgを胎児静脈内ボラス投与し、その後12 μg/hで50時間持続静脈内投与を行った。投与終了後、児に気管切開を施行し、30分間人工呼吸器管理を行った。

人工呼吸器管理

人工呼吸器管理は全群において条件を統一（PEEP 5 cmH₂O, FiO₂ 100%, 呼吸回数 50回/分, 最大吸気圧 35 cmH₂O）して行った。臍帯動脈にカテーテルを挿入し、人工呼吸開始後10分ごとに動脈血ガス分析（pH, pCO₂, pO₂）を測定した。30分間の人工呼吸管理後、児を安楽死させ、直ちに解剖を行い肺組織を採取した。

人工子宮管理

帝王切開にて分娩後、胎児を臍帯が接続された状態で人工子宮バッグ内へ移送した。臍帯動脈2本および臍帯静脈1本に10 Frカテーテルを挿入し、2基の人工肺を並列に接続した体外循環回路へ接続した。回路はポンプレスとし、胎児心拍出による自発循環で灌流を維持した。人工子宮バッグ内には人工羊水を充填し、温度を39℃前後に維持した。人工羊水は12時間ごとに全量交換した。胎児にはニトログリセリン、プロスタグランジン、ミダゾラムおよびベタメサゾンリン酸塩の持続投与を行った。循環動態および血液ガスを定期的にモニタリングし、2日間の管理を行った。

結 果

コントロール群7頭、臨床ACS療法群3頭、人工胎盤+ACS療法群3頭の計13頭がすべてプロトコルを完遂した。出生体重（中央値〔範囲〕）は、コントロール群2500（1940-2598）g、人工胎盤+ACS療法群2370（2215-2430）g、臨床ACS療法群2130（1815-2715）gであり、群間で明らかな差は認めなかった（表1）。人工呼吸管理前の臍帯動脈血液ガス分析は、コントロール群および臨床ACS療法群では帝王切開直後の値を、人工胎盤+ACS療法群では人工子宮離脱直後の値を用いた（表1）。中央値で比較すると、

表1 出生体重および人工呼吸器管理前臍帯動脈血液ガス

	コントロール群	臨床ACS療法群	人工胎盤+ACS療法群
出生体重 (g)	2500 (1940-2598)	2130 (1815-2715)	2370 (2215-2430)
人工呼吸器管理前の臍帯動脈血液ガス			
pH	7.22 (7.22-7.23)	6.97 (6.94-7.32)	7.38 (7.18-7.40)
pCO ₂ (mmHg)	61.7 (58.6-64.0)	69.9 (56.2-71.4)	44.5 (43.1-57.1)
pO ₂ (mmHg)	16.7 (13.4-18.1)	24.1 (21.0-33.8)	20.2 (16.2-21.6)

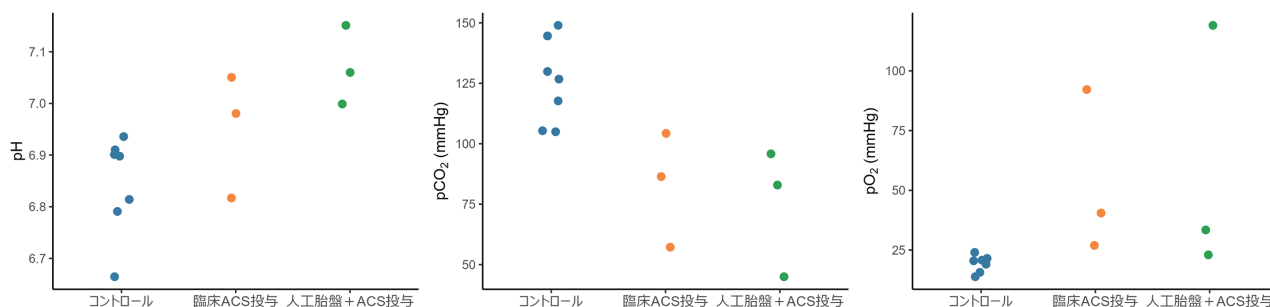


図1 人工呼吸器管理後臍帯動脈血液ガス

臨床ACS療法群、人工胎盤+ACS療法群においてコントロール群と比較しpH, pCO₂, pO₂の改善がみられる。

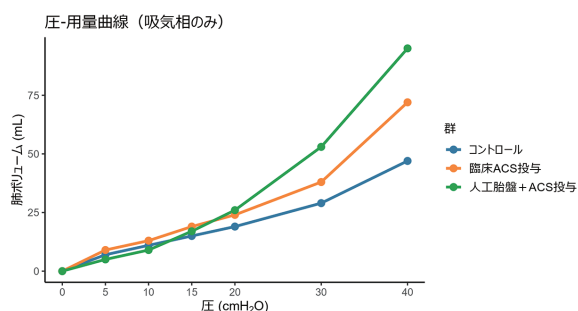


図2 肺圧用量曲線

吸気相のみの肺圧用量曲線を示す。臨床ACS療法群、人工胎盤+ACS療法群においてコントロール群と比較し、用量の増加が見られる。

臨床ACS療法群ではpHがやや低値であった。pCO₂は人工胎盤+ACS療法群で低値傾向を示し、pO₂はコントロール群、人工胎盤+ACS療法群、臨床ACS療法群の順に高値を示した。

30分間の人工呼吸管理後の臍帯動脈血液ガス分析結果を図1に示す。pHはコントロール群6.90 (6.80-6.90)、臨床ACS療法群6.98 (6.90-7.02)、人工胎盤+ACS療法群7.06 (7.03-7.11)であった。pCO₂はコントロール群127.0 (111.5-137.5) mmHg、臨床ACS療法群86.7 (71.9-95.4) mmHg、人工胎盤+ACS療法群82.6 (63.7-89.2) mmHgであった。pO₂はコントロール群20.4 (17.4-21.1) mmHg、臨床ACS療法群40.6 (33.8-66.5) mmHg、人工胎盤+ACS療法群33.3 (28.2-76.2) mmHgであった。pHは臨床ACS療法群、人工胎盤+ACS療法群で高値を示し、pCO₂は

低値を示した。pO₂も臨床ACS療法群、人工胎盤+ACS療法群で高値であった。

解剖時に測定した吸気相における肺圧容量曲線を図2に示す。コントロール群と比較して、臨床ACS療法群および人工胎盤+ACS療法群では、同一圧負荷条件下でより大きな肺容量を示した。すなわち、両ACS投与群において肺コンプライアンスの改善が認められた。

人工胎盤+ACS療法群の圧容量曲線は臨床ACS療法群と同程度の改善を示した。

考察

本研究は予定頭数を完遂できておらず、サンプル数が限られているため統計学的検定は実施していない。この点は本研究の最大の制限である。しかしながら、人工胎盤+ACS療法群においても、臨床ACS療法群と同様に血液ガス所見および肺圧容量曲線の改善が認められたことは重要な知見である。

本研究の主要な示唆は、胎盤を介さずに胎児へ直接ベタメサゾンを用いた投与でも肺成熟が得られる可能性を示した点にある。従来の臨床ACS療法では、母体筋肉内投与後に胎盤通過を経て胎児血中濃度が上昇し、胎児血中最高濃度は約20 ng/mL近くまで達すると推定されている。一方、本研究で人工胎盤+ACS療法群に用いた投与量は、過去の妊娠ヒツジ胎仔を用いた薬物動態研究に基づ

き、胎児血中濃度を2 ng/mL以上で48時間維持することを目標とした低用量持続投与である。子宮内胎仔へ低用量のベタメサゾンを経投した場合にも肺成熟が得られることを過去に報告しているが、今回、人工子宮環境下においても同様の効果が示唆された⁵。すなわち、従来の臨床投与方法と比較して明らかに低い全身曝露量でも肺成熟が誘導され得る可能性がある。

出生体重は3群間で大きな差を認めなかった。人工呼吸開始前の臍動脈血液ガスでは、臨床ACS療法群でpHが低値を示したが、これは1頭で気管切開操作に時間を要した影響が関与している可能性がある。また、人工胎盤+ACS療法群でpCO₂が低値を示したのは、人工子宮下では人工肺の酸素濃度および流量を調整可能であり、循環・換気状態を一定程度制御できることが影響していると考えられる。

一方、30分間の人工呼吸後の血液ガス所見では、コントロール群と比較して臨床ACS療法群および人工胎盤+ACS療法群でpH上昇、pCO₂低下、pO₂上昇が認められた。さらに、肺圧容量曲線の改善も確認されたことから、両ACS投与群において肺コンプライアンスが向上し、ガス交換効率が改善していることが示唆される。特に人工胎盤+ACS療法群では、臨床ACS療法群と同等の肺機能改善がみられる可能性がある。

現在のACS療法では、早産時期の予測困難性により、効果期間外での分娩や不必要な曝露が生じている。本研究では、早産児を人工胎盤に接続し、生理的循環を維持しながら至適濃度のステロイドを投与することで、肺成熟を確実に達成した時点で肺呼吸へ移行するという新たな治療戦略の可能性を示した。

本研究にはいくつかの制限がある。第一に、サンプル数が少なく統計解析を行っていない点である。第二に、評価項目が主として生理学的指標に限定されている点である。今後は頭数を増やした検証に加え、肺組織を用いた組織学的評価や分子生物学的解析を行い、サーファクタント関連蛋白発現や肺胞構造の成熟度を詳細に検討する予定である。また、薬物動態と薬力学を統合した解析を行うことで、至適投与レジメンのさらなる最適化が期待される。

引用文献

1. Liggins GC, Howie RN. A controlled trial of antepartum glucocorticoid treatment for prevention of the respiratory distress syndrome in premature infants. *Pediatrics*. Oct 1972;50(4):515-25.
2. McGoldrick E, Stewart F, Parker R, Dalziel SR. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev*. Dec 25 2020;12:CD004454. doi:10.1002/14651858.CD004454.pub4
3. Takahashi T, Fee EL, Takahashi Y, et al. Betamethasone phosphate reduces the efficacy of antenatal steroid therapy and is associated with lower birth weights when administered to pregnant sheep in combination with betamethasone acetate. *Am J Obstet Gynecol*. Oct 6 2021;doi:10.1016/j.ajog.2021.10.001
4. Usuda H, Ikeda H, Watanabe S, et al. Artificial placenta support of extremely preterm ovine fetuses at the border of viability for up to 336 hours with maintenance of systemic circulation but reduced somatic and organ growth. *Front Physiol*. 2023;14:1219185. doi:10.3389/fphys.2023.1219185
5. Fee EL, Takahashi T, Takahashi Y, et al. Respiratory benefit in preterm lambs is progressively lost when the concentration of fetal plasma betamethasone is titrated below two nanograms per milliliter. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. Nov 1 2023;325(5):L628-L637. doi:10.1152/ajplung.00139.2023

Abstract

Background: Antenatal corticosteroid (ACS) therapy improves neonatal outcomes in preterm birth; however, its therapeutic window is limited and mistimed administration is common. We hypothesized that low-dose betamethasone directly administered to the fetus under artificial womb support would induce lung maturation comparable to conventional maternal ACS therapy. **Methods:** Pregnant sheep at 117–119 days of gestation (term 150 days) were assigned to three groups: (1) control (n=7), (2) clinical ACS (maternal intramuscular betamethasone 12 mg ×2; n=3), and (3) artificial placenta + ACS (n=3). In the artificial womb group, fetuses were delivered at 117 days and supported by a pumpless extracorporeal artificial placenta circuit for 2 days. Betamethasone phosphate was administered directly to the fetus (18 µg bolus followed by 12 µg/h for 50 hours). After treatment, all animals underwent 30 minutes of standardized mechanical ventilation. Umbilical arterial blood gases and inspiratory pressure–volume curves were evaluated. **Results:** Birth weights were comparable among groups. After 30 minutes of ventilation, both the clinical ACS and artificial placenta + ACS groups demonstrated higher pH and pO₂ and lower pCO₂ compared with controls. Pressure–volume curves showed improved lung compliance in both ACS groups, with comparable improvement between the artificial placenta + ACS and clinical ACS groups. **Conclusions:** Direct low-dose fetal administration of betamethasone under artificial womb support induced lung maturation comparable to conventional maternal ACS therapy. This strategy may allow optimized timing and reduced systemic exposure in preterm infants. Further studies with larger sample sizes and histological analyses are warranted.